

# 弥漫大 B 细胞淋巴瘤患者骨髓浸润的检查及疗效分析

周艳贞<sup>1</sup>, 郑源海<sup>1</sup>, 方小丽<sup>1</sup>, 林福安<sup>2△</sup> (福建省漳州市医院: 1. 检验科; 2. 血液科 363000)

**【摘要】 目的** 了解骨髓细胞涂片在弥漫大 B 细胞淋巴瘤 (DLBCL) 骨髓浸润诊断中的作用和地位, 以及化疗效果与骨髓浸润的关系。**方法** 对 60 例初次确诊为 DLBCL 患者的骨髓细胞涂片进行分析, 并对比骨髓组织活检、血象结果, 并通过  $\chi^2$  检验单因素分析化疗效果与骨髓浸润的关系。**结果** 60 例 DLBCL 患者中, 4 例骨髓取材欠佳, 56 例中有 11 例出现骨髓浸润, 其中骨髓涂片检出 7 例, 骨髓活检检出 10 例, 6 例涂片及活检均考虑淋巴瘤骨髓浸润, 1 例骨髓涂片检出, 骨髓活检未检出, Kappa 检验二者在诊断淋巴瘤骨髓浸润上有较好的一致性 (Kappa = 0.665,  $P=0.141$ ), 灵敏度为 85.7%。11 例骨髓浸润中仅 2 例出现白细胞减少或贫血。化疗效果与骨髓浸润相关 ( $\chi^2=6.373, P<0.05$ )。**结论** 化疗效果与骨髓浸润有关, 淋巴瘤化疗前需重视骨髓浸润的检查和诊断。骨髓涂片细胞学检查和骨髓活检相辅相成, 二者相互补充。

**【关键词】** 弥漫大 B 细胞淋巴瘤; 骨髓涂片细胞学; 骨髓活检; 骨髓浸润; 化疗效果

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2014.13.040 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2014)13-1834-02

弥漫大 B 细胞淋巴瘤 (DLBCL) 是最常见的侵袭性非霍奇金淋巴瘤 (NHL) 之一, 在形态学、生物学行为具有显著异质性, 约占成人 NHL 的 30%~40%<sup>[1]</sup>。目前 DLBCL 病因尚不清楚, 发病率随年龄增长而逐渐上升。NHL 往往起病隐匿, 部分患者确诊时已有骨髓浸润, 而骨髓侵犯为影响 DLBCL 预后最重要的相关因素之一, 淋巴瘤侵犯骨髓即定为 IV 期, 预后相对较差。目前检测淋巴瘤是否有骨髓浸润的方法有多种, 包括骨髓涂片学、骨髓活检、<sup>18</sup>F-FDG PET/CT 等<sup>[2-5]</sup>, 这些方法各有优缺点, 但由于肿瘤的浸润往往需要组织病理学检查, 故一般以骨髓活检作为诊断的金标准。本研究通过对本院 2005~2012 年收治的 60 例新发 DLBCL 患者的骨髓细胞学进行回顾性分析, 同时对比骨髓活检及血象等, 探讨骨髓涂片细胞学在诊断 DLBCL 骨髓浸润的重要性, 并分析化疗效果与骨髓是否累及有关, 现报道如下。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 60 例 DLBCL 患者均为 2005 年 1 月至 2012 年 12 月本院血液科初治患者, 其中男 37 例, 女 23 例, 男女之比 1.6:1; 年龄 22~83 岁, 中位年龄 56 岁。所有患者均经淋巴结活检病理学检查证实, 符合世界卫生组织关于 2008 年颁布实行的淋巴瘤分类诊断标准<sup>[6]</sup>, 并参照 Ann Arbor (1966 年) 淋巴瘤国际分期进行临床分期: IV 期 24 例, III 期 16 例, II 期 14 例, I 期 6 例。

**1.2 DLBCL 骨髓涂片和活检检查** 所有患者均在入院或入院前经检查证实为 DLBCL 后, 尚未开始正式化学治疗前由医生于髂前 (后) 上棘行骨髓穿刺, 抽取骨髓液约 0.2~0.3 mL 涂片, 同时另制外周血片 3~4 张一并送检。采用瑞氏染色法染色 (必要时加做过氧化物酶、碱性磷酸酶与糖原等细胞化学染色) 后, 选择细胞分布均匀、染色良好的区域, 在油镜下仔细观察 200 个骨髓有核细胞、100 个外周血有核细胞的形态, 并分类计数, 最后算出各类有核细胞。当 NHL 骨髓细胞分类中淋巴瘤细胞小于 20% 时视为骨髓浸润, 当淋巴瘤细胞大于或

等于 20% 时判为淋巴瘤细胞白血病。并行骨髓活检, 取骨髓组织送病理科检查。

**1.3 骨髓浸润与 DLBCL 治疗效果分析** 所有患者经过完善分期分组检查后, 进行 CHOP 或 CHOP 样方案化疗。CHOP 方案: 环磷酰胺 750 mg/m<sup>2</sup> 第 1 天; 长春新碱 1.4 mg/m<sup>2</sup> 第 1 天; 阿霉素 50 mg/m<sup>2</sup> 第 1 天; 泼尼松 100 mg/d 口服, 第 1~5 天; CHOPE: 在 CHOP 的基础上加足叶乙苷 100 mg/d 静脉滴注, 第 1~3 天; RCHOP 方案: 在 CHOP 方案的基础上, 前一天给予利妥昔单抗 375 mg/m<sup>2</sup> 静脉滴注, 并辅以止吐、保肝、碱化尿液、加强水化等治疗。经过上述化疗 3~4 个周期, 根据 Cheson 等<sup>[7]</sup> 标准来评定判断疗效。完全缓解 (CR): 即肿瘤完全消退大于 1 个月; 部分缓解 (PR): 即病灶最长垂直直径与最大水平直径乘积减少一半以上; 稳定 (SD): 即病灶上述的两种直径乘积减小低于 50% 或增大低于 25%, 持续超过 1 个月; 进展 (PD): 即病灶两种直径乘积增大高于 25% 或新病灶的出现或发热、盗汗、消瘦等症状再次出现。规定治疗有效为 CR 或 PR, SD 和 PD 视为无效。

**1.4 统计学方法** 采用 SPSS17.0 软件包进行统计学分析, Kappa Test 分析骨髓涂片细胞学与骨髓活检病理在诊断淋巴瘤骨髓浸润结果的一致性, 采用  $\chi^2$  检验分析骨髓浸润组和无骨髓累及组的治疗效果, 以  $P<0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 60 例 DLBCL 骨髓累及情况以及外周血白细胞数情况** 60 例 DLBCL 患者中, 大致正常骨髓象 45 例, 取材不良 4 例, DLBCL 累及骨髓 11 例, 其中骨髓浸润 10 例 (90.9%), 淋巴瘤细胞白血病 1 例 (9.1%)。这 11 例累及骨髓患者仅 2 例出现白细胞减低或贫血 (18.2%), 外周血白细胞分类均未见淋巴瘤细胞, 见表 1。

**2.2 骨髓涂片细胞学与病理组织学的相关性** 60 例患者扣除 4 例取材欠佳, 56 例骨髓涂片及活检检查在诊断淋巴瘤骨髓浸润情况见表 2。45 例大致正常骨髓象, 骨髓活检和骨髓涂

△ 通讯作者, E-mail: 359089144@qq.com。

片分别检出 10 例和 7 例淋巴瘤骨髓浸润,其中 6 例骨髓涂片及活检均有考虑浸润,1 例涂片检出而骨髓活检考虑形态正常。经过 SPSS17.0 四格表 Kappa 一致性检验,Kappa 值为 0.665,  $P=0.141$ , 差异无统计学意义,由此说明二者在淋巴瘤骨髓浸润检查上具有较好的一致性,骨髓涂片学检测灵敏度为 85.7%。

表 1 11 例 DLBCL 累及骨髓患者骨髓涂片、骨髓活检、血象情况

患者	性别	年龄	骨髓涂片	骨髓组织活检	血象
1	女	53	(-)	(+)	白细胞 $3.66 \times 10^9/L$ 血红蛋白 69 g/L
2	女	52	(+)	(+)	-
3	男	77	(-)	(+)	-
4	女	66	(+)	(+)	-
5	男	77	(+)	(+)	-
6	女	58	(+)	(+)	-
7	男	28	(+)	(+)	白细胞 $3.7 \times 10^9/L$
8	男	34	(+)	(+)	-
9	女	62	(-)	(+)	-
10	女	58	(+)	(-)	-
11	男	45	(-)	(+)	-

注:(+)表示阳性,(-)表示阴性,-表示血象结果正常。

表 2 骨髓涂片诊断淋巴瘤骨髓浸润与骨髓组织病理诊断结果的比较(n)

骨髓涂片 细胞学	骨髓活检		合计
	阳性	阴性	
阳性	6	1	7
阴性	4	45	49
合计	10	46	56

2.3 骨髓浸润后疗效分析 所有患者经 CHOP 方案或 CHOP 样方案化疗后,中期评估疗效,分析骨髓浸润与化疗效果关系。结果显示,骨髓累及的 11 例 DLBCL 患者有 5 例获得 CR 或 PR,骨髓未发现累及的 45 例患者 37 例获得 CR 或 PR。经过统计学处理,DLBCL 患者疗效与骨髓侵犯有关,差异有统计学意义( $\chi^2=6.373, P<0.05$ ),见表 3。

表 3 骨髓浸润与化疗效果分析

骨髓累及情况	治疗效果		合计
	CR+PR	SD+PD	
累及	5	6	11
未累及	37	8	45
合计	41	15	56

### 3 讨论

非霍奇金淋巴瘤是血液系统较常见的恶性肿瘤之一,它起源于淋巴结或结外淋巴组织,常可累及骨髓等组织器官。DLBCL 为最常见的 NHL 之一,起病隐匿,呈跳跃性侵犯,易侵犯

骨髓或发生淋巴瘤细胞白血病,部分患者经骨髓涂片或活检而诊断。DLBCL 骨髓浸润时,有文献[8]报道淋巴瘤恶性程度与白细胞计数差异无统计学意义,外周血象表现可以多样化,不像通常的白血病那样在其外周血象与骨髓象之间存在某种对应关系。此次研究 60 例患者多数外周血象正常,仅 2 例出现外周血白细胞减少或贫血,这 2 例骨髓象或活检均考虑淋巴瘤累及骨髓,其中 1 例为淋巴瘤细胞白血病。因此淋巴瘤骨髓浸润时不一定表现为血象异常,而与其浸润时间的早晚可能有关。

淋巴瘤患者一旦骨髓被累及即已属于 IV 期,预后较差。所以淋巴瘤骨髓浸润情况对判断病情发展及拟订治疗方案具有重大意义。目前淋巴瘤骨髓累及情况的检查包括骨髓涂片细胞学、骨髓活检及 PET/CT 显像等。张旭等[9]报道 PET/CT 显像在诊断淋巴瘤骨髓浸润上准确率达 85%,但后者虽然也可以因设备限制及费用昂贵,且最终需骨髓活检进一步确定,故应用甚少。多数采用骨髓涂片和骨髓活检进行判断。骨髓涂片和活检各有自己的优缺点。淋巴瘤骨髓浸润常为局限性,而且病变区胶原蛋白纤维化的发生率很高以及骨髓基质对淋巴瘤细胞的黏附力强,容易导致干抽。有时受到血液稀释等因素的影响,骨髓涂片往往造成漏诊。骨髓活检是对完整的骨髓组织切片进行观察,不受细胞与基质的黏着力、细胞塞实程度、有无纤维化及其程度等诸因素的影响。它能更精确地判断增生度,能全面了解造血细胞、脂肪细胞、骨小梁和血管的破坏程度,正确判断造血面积并保持原有的骨髓结构,比较真实地反映骨髓造血状况,还能发现穿刺涂片不能发现的肉芽肿、纤维化、基质出血、水肿等病变,故可以弥补骨髓涂片的缺陷,提高检出率。但骨髓活检也有不足之处,由于骨髓活检切片不能像涂片那样使细胞充分展开,故难以对各系血细胞的形态结构作出精确辨认。

本研究 11 例淋巴瘤骨髓累及患者中有 7 例经骨髓涂片发现淋巴瘤细胞,10 例经骨髓活检诊断,虽然骨髓活检检出率明显升高,但经 Kappa 检验,二者差异并无统计学意义,由此说明二者在诊断骨髓累及上有较好的一致性。本研究中有 1 例骨髓活检未发现细胞形态异常,但骨髓细胞学检查找到了淋巴瘤细胞,故本文提出在淋巴瘤分期检查中,骨髓涂片细胞学和骨髓活检分别提供了细胞学和组织学上的依据,二者相辅相成,缺一不可,建议在完善分期检查中,同时行骨髓细胞学和骨髓活检检查。

DLBCL 是恶性程度不同的一组异质性血液系统肿瘤,其分子生物学水平各一,致使治疗效果和预后相差较大,故研究 DLBCL 相关预后因素成为了当前的热点。DLBCL 没有公认的能反映预后的肿瘤标记物,多数文献报道 DLBCL 疗效和预后与年龄、分期、淋巴的国际预后指数评分、骨髓侵犯、免疫分型、化疗方案等有关。目前,关于有骨髓侵犯 DLBCL 患者对预后影响的研究较少。本文单因素分析骨髓浸润与化疗效果的关系结果显示,骨髓累及是影响 DLBCL 患者化疗效果的危险因素之一,二者之间差异有统计学意义,这与文献报道的基本一致。Chung 等[10]研究发现,DLBCL 累及骨髓并呈现一致性时,预后较骨髓无累及 DLBCL 差。由此提示大家在临床工作中对合并有骨髓累及、预后相对较差的患(下转第 1838 页)

保证后期测定结果的可信性,且利于延长酶免分析仪正常运行。

**3.3 血清分离胶的应用展望** 如今医学检验技术已全面步入自动化、微机管理的新时代,不论在临床化学、血清学、免疫学等各种检测领域常常都需要分离血清。因此,如何足量且快速分离血清、简化操作,就成为医学检验界迫切需要解决的问题。近年来,血清分离胶的应用使这一问题的解决成为可能<sup>[9-10]</sup>。血清分离胶是一种具有触变性的特殊流体,常态下其在内部氢键的缔合作用下形成网状结构,离心时网状结构被破坏,变成黏度低的流体;离心力消失后,其又重新形成网状结构。因此,当分离胶与凝固后的血液在同一试管中离心时,分离胶便在血清和血块之间形成胶状的隔离层将血清和血块隔开,从而提高了血清的获取率,且利于在原状态下保存血清,简化检验过程,提高工作效率。此项技术最早在美国诞生,1991 年中国科学院大连化学物理研究所和大连临床检验中心协作,在国内首次研制出国产的血清分离胶,经严格验证,已完全达到分离胶标准要求。但由于血清分离胶技术知晓率仍不高,以及质量较高的带分离胶真空采血管价格较贵,一定程度限制了它的应用。随着各项相关技术的发展,其必将登上检验医学的历史舞台,发挥举足轻重的作用。

综上所述,通过比较临床常见的 3 种全自动酶免分析仪检测标本的前处理方法之仪器安全使用情况、指标测定可信性、稳定性等,可见改良之方法<sup>③</sup>是一种既便捷省时,又安全可靠的理想方法,易于规范和标准化操作,值得各级临床血站系统大力推广。若进一步结合血清分离胶的使用,可能对提高检测效率及信度大有裨益,并有助全面提高 ELISA 的检测质量。

#### 参考文献

[1] 刘正敏,姚海云,韩雪莹,等.不同全自动酶免分析系统检

(上接第 1835 页)

测结果的可信性,且利于延长酶免分析仪正常运行。

#### 参考文献

- [1] Jaffe ES, Harris NL, Stein H, et al. World health organization classification of tumors pathology and genetics: tumors of haematopoietic and lymphoid tissues[M]. Lyon: Iarc Press, 2001: 171-174.
- [2] 徐光明,邹学森.非霍奇金淋巴瘤骨髓侵犯 208 例的血液学分析[J].实用癌症杂志,2009,24(5):533-534.
- [3] 应晓杨,张永利.骨髓活检在恶性血液病诊断中的意义[J].医学研究杂志,2009,38(1):98-99.
- [4] Pakos EE, Fotopoulos AD, Ioannidis JP. 18F-FDG PET for evaluation of bone marrow infiltration in staging of lymphoma: a meta-analysis[J]. J Nucl Med, 2005, 46(6): 958-963.
- [5] Schasfer NG, Strobel K, Taverna C, et al. Bone involvement in patients with lymphoma: the role of FDG-PET/

CT[J]. Eur J Nucl Med Mol Imaging, 2007, 34(1): 60-67.

- [2] 李燕平.重视分析前质量控制 提高检验质量[J].中华检验医学杂志,2005,28(2):219.
- [3] 郭菲,朱燕霞,郭峰,等.血标本制备对全自动酶标检测 HBsAg 结果的影响[J].中国输血杂志,2004,17(2):91-92.
- [4] 徐琼峰. AP22 Speedy 型全自动酶免分析系统性能验证[J].检验医学与临床,2013,10(13):1638-1639.
- [5] 朱阳泉,徐长根,戴瑞娣,等.影响 FAME 全自动酶免分析系统检测因素探讨[J].临床输血与检验,2004,6(4):254-256.
- [6] 黄惠,王丽娜,詹诣. TECAN 全自动酶免分析系统检测乙型肝炎血清学标志物的特异性评价[J].检验医学,2010,3(3):161-163.
- [7] 苏宗义,张振国,李彩虹.全自动酶免分析仪检测 HIV 携带阳性解决方法的探讨[J].中国当代医药,2013,4(4):98-99.
- [8] 彭庆兵.标本因素对酶联免疫吸附试验测定的影响[J].实用医技杂志,2007,14(31):4292-4293.
- [9] 姚维菊.不同血液样本在常规生化项目检测中的结果比较[J].检验医学与临床,2013,10(4):468-469.
- [10] 秦维超,邱方域,严礼华,等.血清分离胶对生化指标测定的临床应用研究[J].江西医学检验,2002,20(6):335-336.

(收稿日期:2013-11-08 修回日期:2014-02-11)

CT[J]. Eur J Nucl Med Mol Imaging, 2007, 34(1): 60-67.

- [6] 朱雄增. WHO(2008)恶性淋巴瘤分类解读[J].诊断病理学杂志,2009,16(4):241-245.
- [7] Cheson BD, Pfistner B, Juweid ME, et al. Revised response criteria for malignant lymphoma[J]. Clin Oncol, 2007, 25(5): 579-586.
- [8] 李志阳,王金龙,李菊香.非霍奇金淋巴瘤骨髓侵犯后骨髓象分析[J].实用医学杂志,2009,25(3):428-429.
- [9] 张旭,樊卫,林晓平,等.18F-FDG PET/CT 与双侧髂棘穿刺活检在弥漫大 B 细胞淋巴瘤骨髓浸润中诊断价值[J].肿瘤学杂志,2008,14(8):640-643.
- [10] Chung R, Lai R, Wei P. Concordant but not discordant bone marrow involvement in diffuse large B cell lymphoma predicts a poor clinical outcome Independent of the International Prognostic Index[J]. N Engl J Med, 2007, 329(5):987-994.

(收稿日期:2013-11-06 修回日期:2014-02-10)